

金ナノ粒子フォトアフィニティープローブにおける光反応基の反応性解析

(¹東農工大工) ○阿部光太郎¹・足立篤史¹・櫻井香里¹

Reactivity analysis of photoreactive groups for gold nanoparticle-based photoaffinity probes

(¹ Graduate School of Engineering, Tokyo University of agriculture and technology) ○Kotaro Abe¹, Atsushi Adachi¹, Kaori Sakurai¹

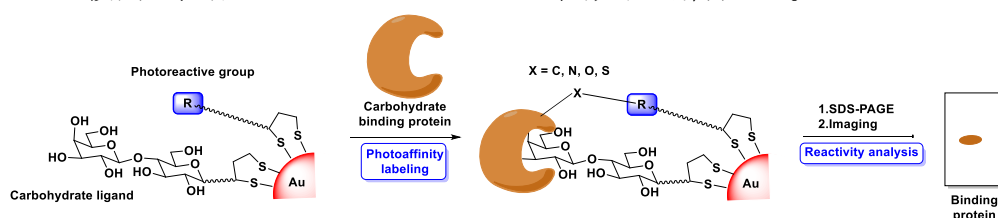
【Background・Aim】 Photoaffinity labeling has been conventionally used because it can directly capture target proteins by photocrosslinking. However, it has been a challenge to control the affinity-dependent reaction by photoreactive groups, especially in the cases with low affinity or low abundance proteins. In order to address this problem, we have developed novel multivalent probes consisting of a photoreactive group and a small-molecule ligand on gold nanoparticles and succeeded in improving the efficiency of labeling.^{1,2} In this study, we analyzed the reactivity of the photoreactive groups on the gold nanoparticle probes to develop a versatile target molecule identification technique.

【Methods・Results】 In accordance with previous studies, we synthesized photoreactive groups and carbohydrate ligands as lipoic acid derivatives and then co-functionalized them on the gold-nanoparticles using a ligand exchange method to prepare a new set of photoaffinity probes. Photoaffinity labeling was carried out using these probes and model binding proteins. The labeled proteins were separated by SDS-PAGE followed by in-gel detection to analyze the labeling efficiency for each probe.

Keywords : Photo affinity labeling, Photoreactive group, Target identification, Gold-nanoparticle

【背景・目的】 フォトアフィニティーラベリングは、標的タンパク質を光架橋して直接捕捉できることから、近年標的探索法として多用されている。しかし光反応基による親和性依存的な反応の制御が難しく、低親和性や低発現量の標的タンパク質のラベル化が課題であった。これまでに当研究室では、光反応基と低分子リガンドを金ナノ粒子にマルチバレント修飾したプローブを開発しラベル化の高効率化に成功した^{1,2}。本研究では汎用性の高い標的分子同定技術の開発に向けて、金ナノ粒子プローブにおける光反応基の反応性の解析を行った。

【方法・結果】 先行研究にならい、光反応基と糖鎖リガンドをリポ酸誘導体として合成した後、リガンド交換法でこれらを金ナノ粒子表面に共修飾した金ナノ粒子フォトアフィニティープローブを作製した。これらのプローブとモデル系結合タンパク質を用いたフォトアフィニティーラベリングを行った。ラベル化タンパク質を SDS-PAGE で分離後、ゲル内検出し、各プローブにおけるラベル化効率を解析した。



1) K. Sakurai, Y. Hatai, A. Okada, *Chem. Sci.* **2016**, 7, 702-706.

2) K. Mori, K. Sakurai, *Org. Biomol. Chem.* **2021**, 19, 1268-1273.